

Pengaruh Penyambungan *Plantlet* Jeruk Siam Kintamani (*Citrus nobilis* Lour.) yang Diregenerasi Melalui Embriogenesis Somatik Terhadap Pertumbuhan dan Produksi Tanaman (*The Effect of Grafted Kintamani Tangerine Plantlet Derived from Somatic Embryogenesis on its Growth and Production*)

Nirmala Friyanti Devy¹⁾, Yenni¹⁾, dan Hardiyanto²⁾

¹⁾Balai Penelitian Tanaman Jeruk dan Buah Subtropika, Jln. Raya Tlekung No. 1, Junrejo, Batu, Jawa Timur, Indonesia 65301

²⁾Pusat Penelitian dan Pengembangan Hortikultura, Jln. Tentara Pelajar No. 3C,

Kampus Penelitian Pertanian Cimanggu, Bogor, Jawa Barat, Indonesia 16111

E-mail: nfdevy@gmail.com

Diterima: 18 Februari 2017; direvisi: 10 Oktober 2017; disetujui: 1 November 2017

ABSTRAK. *Plantlet* jeruk hasil perbanyakan embriogenesis somatik (ES) *in vitro* telah banyak dihasilkan. Meskipun demikian, pertumbuhan vegetatif dan generatif di lapang belum dievaluasi. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengevaluasi kemampuan pertumbuhan vegetatif dan generatif tanaman jeruk hasil sambung dengan *plantlet* asal ES dibandingkan mata tempel asal BPMT. Penelitian dilakukan di Kebun Percobaan Tlekung, Balai Penelitian Tanaman Jeruk dan Buah Subtropika, mulai September 2013 sampai dengan Desember 2016. Materi penelitian adalah tanaman jeruk dengan batang atas asal (a) *plantlet* hasil regenerasi melalui ES tanpa bagian akarnya dan (b) mata tempel yang berasal dari Blok Penggandaan Mata Tempel (BPMT), yang masing-masing disambungkan dan ditempelkan dengan batang bawah *Japansche Citroen* (JC) berumur 8 bulan setelah *transplanting*. Tanaman hasil sambung berumur 1 tahun dipindah dan ditanam di lapang dengan jarak tanam rapat 1,5 m x 1,5 m. Pengamatan pertumbuhan dilakukan mulai umur 18 – 42 bulan setelah *transplanting* (BST). Hasil penelitian menunjukkan bahwa tanaman jeruk dengan batang atas hasil ES dapat tumbuh, berkembang, dan berproduksi sama dengan tanaman dengan batang atas asal BPMT. Tinggi tanaman, diameter batang atas, dan diameter batang bawah pada tanaman ES tidak berbeda nyata dengan tanaman BPMT. Tanaman pada dua perlakuan mulai berbunga pada umur 18 BST, dengan jumlah bunga, buah, dan persentase *fruitset* yang tidak berbeda nyata antarkedua perlakuan, demikian juga pada pembungaan pada tahun berikutnya. Jumlah buah pada tahun ke-2 berbuah (September 2014) dan akhir pengamatan (September 2016) menunjukkan terjadi kenaikan sebesar 215,7% dan 176,1% pada masing-masing perlakuan ES dan BPMT, sedangkan pada tahun ke-4 pembuahan (2016), perlakuan tanaman jeruk hasil ES mempunyai jumlah buah/tanaman dan berat buah total/tanaman lebih banyak secara nyata dibandingkan asal BPMT. Sifat fisik dan kualitas buah (vit C, total keasaman, dan TPT) yang dihasilkan relatif sama. Tanaman jeruk siam Kintamani yang berasal dari *plantlet* hasil perbanyakan ES *in vitro* dan disambungkan dengan batang bawah JC dapat tumbuh, berkembang, dan berproduksi dengan normal di lapang.

Kata kunci: Siam Kintamani (*Citrus nobilis* Lour.); BPMT; Sambung; Tempel; Embriogenesis somatik

ABSTRACT. The plantlets derived from citrus somatic embryogenesis (SE) *in vitro* have been widely produced. However, their vegetative and generative growth in the field has not been evaluated. The aimed of this research was to evaluate the ability of vegetative and generative growth both of SE and Budwood Multiplication Block (BMB) derived citrus plants. The research was conducted in Tlekung Experimental Garden, Indonesian Citrus and Subtropical Fruit Research Institute, from September 2013 to December 2016. The citrus plants derived from (a) root-decapitated plantlets and (b) buds come from BMB that were grafted and budded, respectively on 8 months old JC rootstock. One-year old grafted and budded plants were planted at field using a dense spacing (1.5 m x 1.5 m). The plant growth observation was done at 18–42 months after field transplanting (MAT). The results showed that the SE derived citrus plants could grow, develop, and produce as well as the BMB one. The SE and BMB plant height, scion, and rootstock diameter were not significantly different. All treatment plants were flowering on 18 MAT, the number of flower, fruit, and fruit set percentages were not significantly as well as in the following year. The fruit total in the 2nd year (September 2014) and the end of the observation (September 2016) showed an increase of 215.7% and 176.1% on the both of SE and BMB derived plant, respectively. In the 4th year (2016), the number fruits/plant and total fruit weight/plant were better on SE derived plant than BMB one, however the fruit physical and quality properties produced (vitamin C, total acidity, and TSS) were relatively similar. The Kintamani tangerine citrus plants derived from plantlet that grafted on to JC rootstock could grow develop and produce well in the field.

Keywords: Kintamani tangerine (*Citrus nobilis* Lour.); Budwood multiplication block; Grafting; Budding; Somatic embryogenesis

Tanaman jeruk umumnya diperbanyak dengan cara menyambung batang bawah dengan batang atas. Batang bawah yang digunakan berasal dari biji sehingga mempunyai sistem perakaran dalam dengan akar serabut yang tumbuh menyebar di sekeliling batang. Batang atas merupakan bagian penting dari

tanaman karena menghasilkan buah dari varietas tertentu yang dikehendaki.

Batang bawah pada tanaman hasil sambung mempunyai peran yang tinggi dalam menunjang pertumbuhannya. Secara umum, bagian tersebut berpengaruh terhadap penyerapan nutrisi (Yuan *et al.*

2016), vigoritas tanaman (Liu *et al.* 2017), toleransi tanaman terhadap stres genangan (Brito *et al.* 2014), kekeringan (Pedroso *et al.* 2014), salinitas (Simpson *et al.* 2014), pH tinggi (Koepke & Dhingra 2013), ketahanan terhadap penyakit tertentu (Santos *et al.* 2015), produksi serta kualitas buahnya (Ghosh *et al.* 2012, Ahmed *et al.* 2006, Garcia-Sanchez *et al.* 2015). Dari beberapa penelitian, diketahui bahwa batang bawah berpengaruh pada batang atas karena dapat memengaruhi ekspresi gen pada batang atasnya (Bhogale *et al.* 2014, Tzarfati *et al.* 2013, Prassinis *et al.* 2009, Kumari *et al.* 2015), respons tersebut dapat berbeda tergantung pada jenisnya. Perbedaan respons pada berbagai batang bawah, salah satunya diduga disebabkan adanya perbedaan elemen yang menyusun *floem* dan *xilemnya* (Saeed *et al.* 2011).

Sistem perbanyakan pada jeruk yang banyak digunakan adalah okulasi (menempel) mata tempel pada suatu batang bawah. Dari regulasi yang ada di Indonesia, mata tempel batang atas seharusnya berasal dari BPMT, yang merupakan bedengan dalam rumah kaca *insect proof* dan ditanami induk jeruk bebas penyakit kelas benih pokok, dikelola secara optimal dengan jarak tanam rapat (20 – 25 cm) x (40 – 50 cm) dan berfungsi sebagai sumber mata tempel bagi para penangkar benih sehingga kebenaran varietas dan kesehatan benih terjamin.

Produksi benih bebas penyakit dapat juga diperoleh dengan teknologi kultur *in vitro*, yaitu regenerasi melalui embriogenesis somatik (ES) (Meziane *et al.* 2012, El-Sawy *et al.* 2013, Widyaningsih *et al.* 2013). Menurut Solis Ramos *et al.* (2012), embrio somatik berasal dari sel-sel somatik yang tumbuh dan menghasilkan sel embriogenik. Pada kondisi optimal, melalui serangkaian perubahan morfologi dan biokimia, sel embriogenik tersebut berkembang menjadi suatu embrio yang mempunyai struktur bipolar (mempunyai calon akar dan tunas) tanpa memiliki jaringan pembuluh yang menghubungkan dengan jaringan asli/induknya (Solis-Ramos *et al.* 2012). Diduga karena tidak ada proses translokasi, menyebabkan produksi embrio somatik tersebut bebas virus (Goussard *et al.* 1991).

Namun demikian, *plantlet* jeruk yang berkembang dari ES mempunyai sifat *juvenile*/fase vegetatif yang panjang, fase tersebut bisa mencapai 12–15 tahun (Ligeng *et al.* 1995). Dengan menyambung *plantlet* jeruk dengan batang bawah JC, diperoleh benih yang kompatibel sehingga tanaman tumbuh dengan normal pada fase perbenihan dan setelah dipindah ke lapang (Devy *et al.* 2013, Devy *et al.* 2014). Pada jeruk hias Kalamondin (*Citrus mitis* Blanco), tanaman dapat berbunga serta berbuah normal pada umur 9 bulan di lapang (Devy *et al.* 2013).

Menurut Wang *et al.* (2011), penyambungan antara batang bawah dan batang atas yang kompatibel dapat mendorong terjadinya translokasi dari batang bawah ke batang atas seperti protein *non-cell-autonomous* dan protein-RNA kompleks melalui *floem* yang terbentuk pada daerah sambungan, atau sebaliknya dapat mengalirkan mikro RNA lainnya dari batang atas ke batang bawah. Hal ini didukung oleh penelitian Tzarfati *et al.* (2013) di mana pada jeruk keprok dan *grapefruit* yang disambung pada batang bawah *Troyer* dan *Volkamer*, ekspresi dari *miR156* dan *miR157* pada *petiole* daun batang atasnya secara nyata berkurang dibandingkan kontrol. Pada tanaman kentang, protein *miR156* berfungsi sebagai sinyal untuk mengatur perkembangan tanaman (Bhogale *et al.* 2014), sedangkan pada tanaman berkayu, pengurangan ekspresi dari kedua mikro RNA tersebut berkaitan dengan pengurangan fase *juvenile* (Wang *et al.* 2011).

Kemampuan tanaman untuk berkembang dan berproduksi juga sangat dipengaruhi oleh faktor lingkungan. Iklim (curah hujan, kelembapan, dan suhu) yang bervariasi berpengaruh terhadap perkembangan buah, produksi, dan kualitas yang dihasilkan (Chelong & Sdoodee 2013). Pengairan atau irigasi merupakan kebutuhan utama untuk proses fotosintesis (Xie *et al.* 2012) serta dapat menekan terjadinya penyakit tertentu pada jeruk, misalnya penyakit virus *Citrus variegated chlorosis* (CVC) yang disebabkan *Xylella fastidiosa* (Goncalves *et al.* 2014). Pengolahan tanah juga berpengaruh terhadap tingkat terbentuknya koloni jamur mikoriza, ketersediaan mineral dalam tanah, serta aktivitas enzimnya (Wang *et al.* 2016).

Tujuan dari penelitian adalah untuk membandingkan kemampuan pertumbuhan vegetatif dan generatif antara jeruk siam Kintamani dengan batang atas asal *plantlet* hasil regenerasi melalui ES dan mata tempel dari BPMT, yang masing-masing disambungkan dengan batang bawah JC. Hipotesis penelitian adalah bahwa materi batang atas yang digunakan pada benih jeruk sambungan yang berasal dari *plantlet* hasil regenerasi melalui embriogenesis somatik akan mengalami fase juvenil yang panjang sehingga tanaman dapat berbunga dan berproduksi lebih lama dibandingkan yang konvensional (batang atas berasal dari mata tempel BPMT).

BAHAN DAN METODE

Waktu dan Tempat

Penelitian ini dilakukan pada bulan September 2013–Desember 2016 di KPTlekung, Balai Penelitian Tanaman Jeruk dan Buah Subtropika. Benih tanaman

jeruk siam Kintamani (*Citrus nobilis* L. cv. Kintamani) berasal dari hasil penyambungan mata tempel asal *plantlet* hasil regenerasi melalui embriogenesis dengan batang bawah JC dan dibandingkan dengan tanaman hasil perbanyakan konvensional (mata tempel dari BPMT yang disambungkan pada batang bawah JC).

Perbanyakan Embrio Somatik Melalui Regenerasi Embriogenesis *In Vitro*

Bahan tanam yang digunakan adalah jaringan nuselus pada biji buah muda (14 minggu setelah bunga mekar). Media kultur *in vitro* yang digunakan adalah media standar MS padat yang terdiri dari garam MS makro dan mikro, sukrosa 50 g/l, thiamin-HCl 0,2 mg/l, piridoksin-HCl 1 mg/l, asam nikotinat 1 mg/l, myo-inositol 100 mg/l, glicin 4 mg/l, dan bacto agar 7 g/l dengan pH medium \pm 5,7. Kalus dan embrio yang tumbuh dikulturkan pada medium MS + 500 mg/l ME + 1,5 mg/l BA + 30 g/l sukrose + 7 g bacto agar (Devy et al. 2014). *Plantlet* (tanaman kecil) akan tumbuh dari embrio (Gambar 1).

Perbanyakan Jeruk Dengan Batang Atas Menggunakan Mata Tempel Berasal Dari BPMT

Perbanyakan benih dilakukan secara okulasi atau penempelan pada JC umur 8 bulan. Mata tempel yang digunakan berasal dari tanaman induk kelas pokok yang ditanam di *screenhouse* BPMT (Gambar 2a).

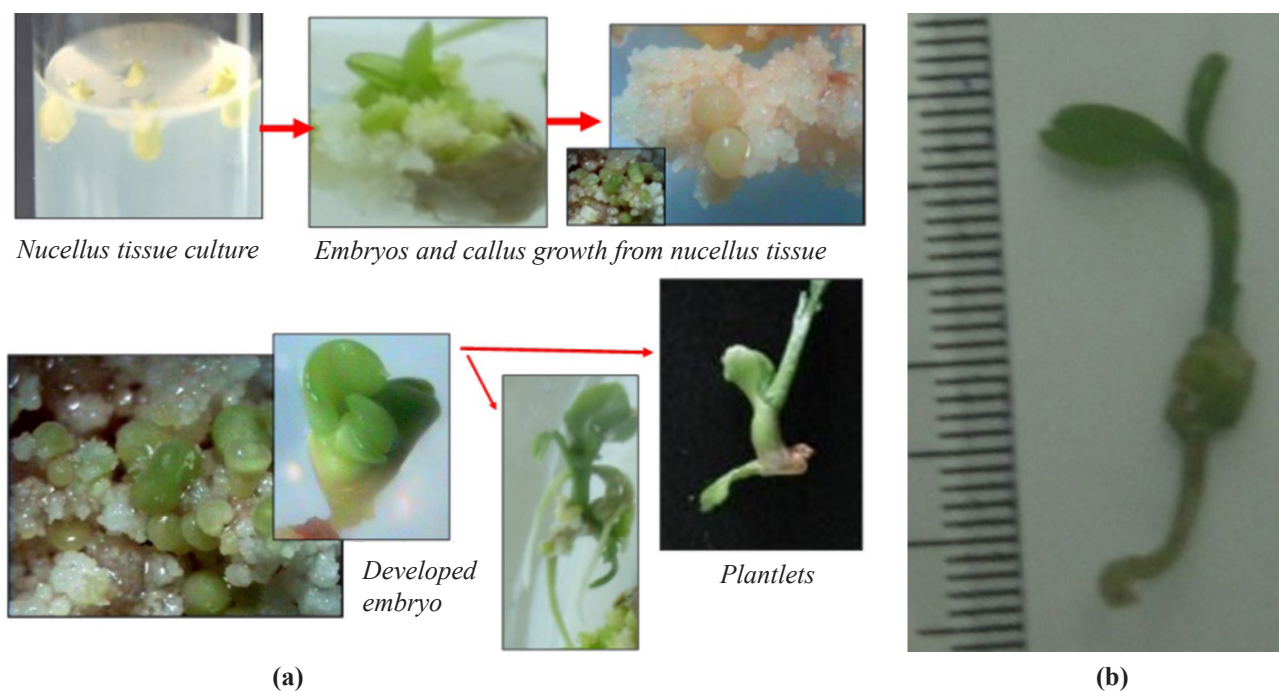
Perbanyakan Jeruk Dengan Batang Atas Berupa *Plantlet* Hasil Regenerasi Melalui ES

Pada perbanyakan ini, *plantlet* yang berumur 2 bulan setelah berkembang dari embrio digunakan sebagai bahan batang atas. Bagian kotiledon dan akar yang sudah terbentuk, dipotong pada bagian pangkalnya dibuat irisan miring. Metode yang dilakukan adalah dengan menyambung batang bawah JC umur 8 bulan dengan *plantlet* dengan cara menyisipkan pada irisan yang dibuat pada ketinggian 15–20 cm dari leher batang (Devy et al. 2014) (Gambar 2b).

Benih jeruk hasil sambung dan okulasi dipelihara secara optimal di rumah pembibitan sampai dengan umur 1 tahun setelah penyambungan, kemudian ditanam di lapang dengan jarak tanam rapat (1,5 m x 1,5 m) untuk dilakukan evaluasi pertumbuhan maupun produksinya.

Pengamatan pertumbuhan dilakukan mulai tanaman umur 18 bulan setelah *transplanting* (BST)/pindah tanam di lapang (September 2013) sampai dengan umur 42 BST (September 2015), pengamatan fase generatif dilakukan sejak tanaman mulai berbunga (September 2013, 18 BST).

Parameter yang diamati adalah tinggi tanaman, diameter batang atas dan batang bawah, saat berbunga, *fruit/set* (jumlah bunga/jumlah buah x 100%), jumlah buah pada awal berbuah normal (September 2014) dan pada akhir pengamatan (September 2016).



Gambar 1. Alur produksi *plantlet* melalui kultur nuselus *in vitro* (Sumber: Devy et al. 2014) (a) *plantlet* sebagai bahan batang atas siap sambung (Sumber: Devy et al. 2013) (b) [Schema of plantlet production through *in vitro* nucellus culture (Source: Devy et al. 2014) (a) *plantlet* as a budwood ready to graft (Source: Devy et al. 2013) (b)]



Gambar 2. Perbanyak benih jeruk secara okulasi dengan mata tempel asal BPMT (a) dan penyambungan *plantlet* asal regenerasi melalui ES (b) (Sumber : Devy *et al.* 2014) [*Citrus seedling propagation by budding using budwood derived from budwood multiplication block (a) and grafted plantlet derived from regeneration via ES (b) (Source: Devy et al. 2014)*]

Sifat fisik buah diamati pada saat tanaman sudah berbuah stabil, yaitu pada tahun ke-3 (September 2016), parameter yang diamati adalah rerata tinggi, diameter, berat, berat daging, berat kulit, tebal kulit, jumlah biji/buah, jumlah juring, panjang biji, berat ampas, dan volume jus (ml/100 ml).

Tinggi tanaman diukur dari dasar tanam, sedangkan untuk diameter batang atas dan bawah masing-masing diukur pada 5 cm di atas dan di bawah titik penyambungan.

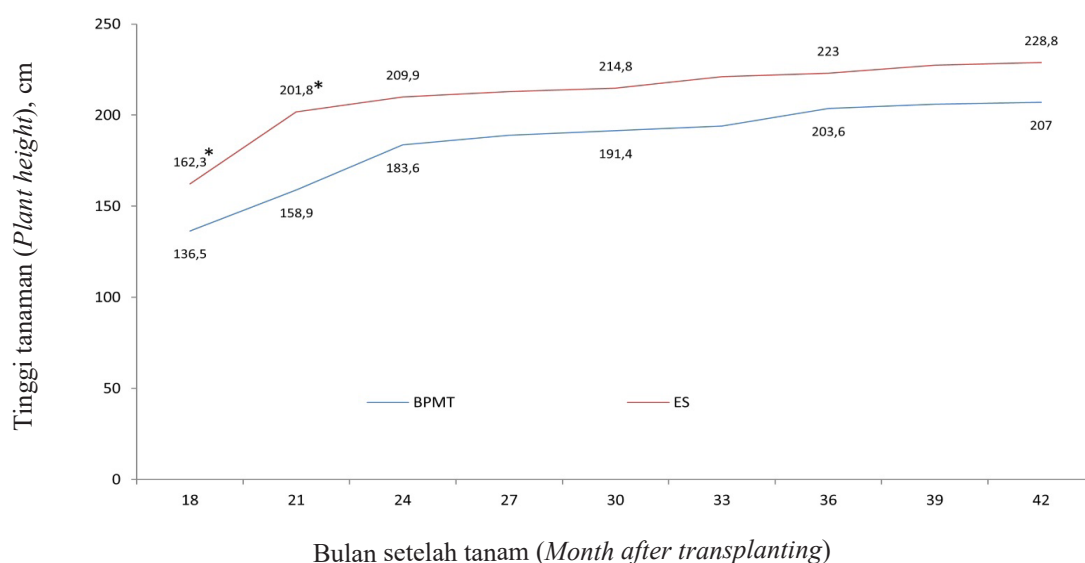
Penelitian dirancang menggunakan rancangan acak kelompok dengan dua perlakuan, tiga ulangan, di mana setiap ulangan menggunakan 10 tanaman untuk setiap unit perlakuan.

HASIL DAN PEMBAHASAN

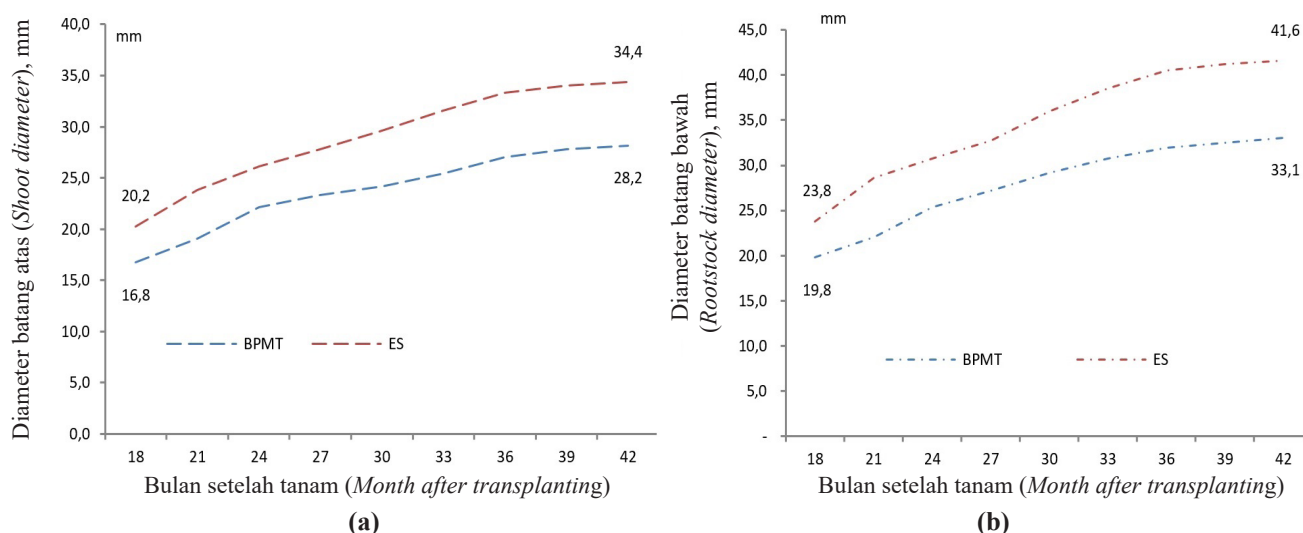
Pertumbuhan Tinggi, Diameter Batang Atas, dan Diameter Batang Bawah Tanaman

Tanaman jeruk dengan batang atas asal *plantlet* hasil regenerasi melalui ES dan mata tempel dari BPMT, mempunyai tinggi tanaman yang berbeda nyata hanya pada umur 18 dan 21 BST (Gambar 3), sedangkan diameter batang atas dan batang bawah tidak menunjukkan perbedaan yang nyata (Gambar 4a dan 4b).

Hasil penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa pertumbuhan tanaman hasil sambung antara batang bawah jeruk JC dengan *plantlet* hasil perbanyakan



Gambar 3. Tinggi tanaman jeruk asal ES dan BPMT umur 18 – 42 BST (September 2013 – 2015) [(*Plant height of citrus derived from ES and budwood multiplication block on the age of 18 – 42 months after transplanting (September, 2013 – 2015)*)]



Gambar 4. Diameter batang atas (a) dan bawah (b) tanaman ES dan BPMT umur 18–42 BST [Shoot diameter (a) and rootstock diameter (b) of SE plants and BMB]

embriogenesis *in vitro* relatif sama dibandingkan dengan tanaman yang mata tempelnya berasal dari BPMT, baik pada fase penyambungan (sampai dengan umur 1 tahun setelah sambung di rumah pembibitan), maupun sampai umur 1 tahun setelah *transplanting*/ pindah lapang (Davy et al. 2014). Hasil yang sama juga didapat pada pertumbuhan selanjutnya, yaitu sampai tanaman memasuki fase generatif (42 BST).

Pertumbuhan tinggi maupun diameter batang atas dan bawah yang relatif sama, merupakan indikator bahwa perlakuan penyambungan mata tempel yang berasal dari ES dan BPMT tersebut memberikan respons kompatibel yang sama antara keduanya pada batang bawah JC yang digunakan. Menurut Goldschmidt (2014), penyambungan yang kompatibel merupakan kondisi yang sulit didefinisikan, umumnya menggambarkan keadaan proses penyatuan antara batang atas dan bawah yang berhasil secara berkelanjutan, dapat bertahan hidup, dan semua proses fisiologi pada tanaman sambungan tersebut berfungsi dengan baik. Dari penelitian pada komoditas labu, tomat, kentang, melon, apel, dan Arabidopsis disimpulkan bahwa terdapat proses translokasi mRNA (antara lain PP16, NACP, PFP-T6, GAI, AUX/IAA14) melalui daerah penyambungan sehingga pembentukan hormon-hormon seperti giberelin, auksin dll. terbentuk optimal sehingga proses pertumbuhan dan perkembangan pada tanaman tersebut juga optimal (Harada 2010).

Jenis batang bawah yang digunakan berperan sangat penting dalam menunjang pertumbuhan batang atasnya (Ghosh et al. 2012, Ahmed et al. 2006). Kemampuan untuk menyerap air dan nutrisi dari tanah dan translokasi ke seluruh bagian tanaman diduga menjadi faktor dominan pendorong pertumbuhan dan perkembangan tanaman, yang diekspresikan

dengan kandungan mineral atau status nutrisi pada daunnya (Toplu et al. 2008). Penyambungan pada buah semangka yang kompatibel, proses penyerapan N, K, Ca, Fe, Mg, dan Mn dari akar, serta kandungannya pada batang, daun, kulit, dan daging buah lebih tinggi dibandingkan tanaman kontrol (tidak disambung) (Yuan et al. 2016).

Selain nutrisi, aliran hormon-hormon pertumbuhan tanaman juga melewati sistem vaskular yang terbentuk dengan baik pada daerah penyambungan. Menurut Liu et al. (2017), kandungan IAA pada daun dan kayu berkorelasi positif dengan vigoritas tanaman yang disambung. Pada batang bawah yang bersifat lebih vigor dibandingkan lainnya akan menerima translokasi IAA dari bagian atas ke akar dengan kadar yang lebih tinggi yang ditranslokasikan secara basipetal (*polar auxin transport stream/PATS*) yang berada pada sistem jaringan pembuluh batang, sedangkan translokasi auksin ke jaringan sekitarnya menggunakan *connective auxin transport (CAT)* sehingga pertukaran auksin antara CAT dan PATS berpengaruh terhadap komunikasi antara ruas-ruas batang (Bennet et al. 2016) dan mendorong terjadinya pembentukan kayu (Aloni 2007). Gradien berkurangnya konsentrasi auksin dari daun sampai perakaran dapat memengaruhi proses pembesaran sel, komposisi dinding, dan densitasnya pada kayu.

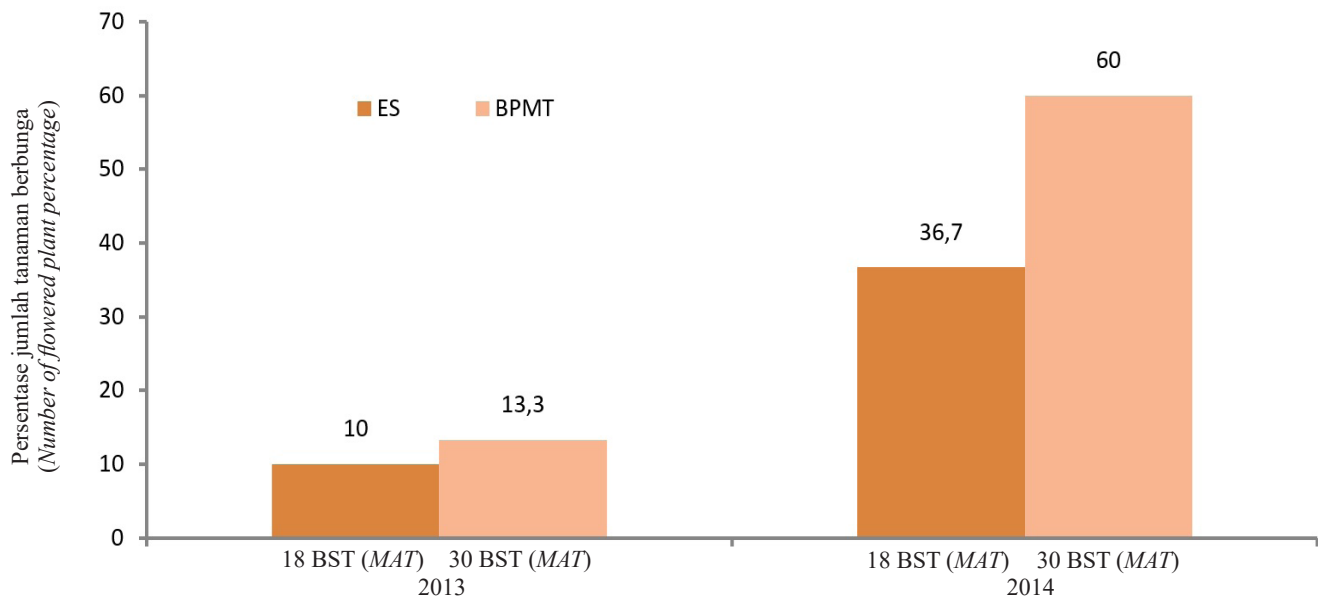
Secara umum, auksin berpengaruh terhadap aktivitas hormon lainnya, antara lain dengan menginduksi biosintesa Giberelin (GA_3) (Frigerio et al. 2006). Zat pengatur tumbuh GA_3 yang terbentuk berpengaruh pada pemanjangan batang maupun perluasan daun sehingga berpengaruh pula pada ukuran tinggi maupun diameter batang (Davière & Achard 2013). Diduga biosintesa GA_3 terjadi di daerah perakaran

Tabel 1. Rerata jumlah bunga/tanaman, jumlah buah/tanaman, dan fruitset pada 18 dan 30 BST (September 2013 dan 2014) [The average of flowers number per plant, fruit number per plant, and fruitset on 18 and 30 MAT (September 2013 and 2014)]

Perlakuan (Treatments)	Jumlah bunga (Flower number)		Jumlah buah (Fruit number)		Fruitset, %	
	2013	2014	2013	2014	2013	2014
ES	3,1 ^{tn (ns)}	50,8 ^{tn (ns)}	3,0 ^{tn (ns)}	29,1 ^{tn (ns)}	83,6 ^{tn (ns)}	55,7 ^{tn (ns)}
BPMT	5,8	35,2	4,4	19,4	86,4	54
KK (CV), %	26,3	16,5	32	36	10,8	17,8

tn = tidak nyata nyata pada uji Duncan 5%, ns = not significant

ES : jeruk dengan batang atas *plantlet* hasil regenerasi melalui ES, BPMT : jeruk dengan batang atas mata tempel asal BPMT

**Gambar 5. Persentase jumlah tanaman berbunga pada umur 18 dan 30 BST (2013 dan 2014) [Number of flowered plant percentage on 18 and 30 MAT (2013 and 2014)]**

dan dialirkan secara akropetal ke bagian atas tanaman melalui jaringan pembuluh *xilem* saat transpirasi (Liu *et al.* 2017). Selain auksin dan GA₃, menurut Ko *et al.* (2014) bagian pucuk tanaman dapat berkembang dengan normal bila sistem transpor sitokinin yang terbentuk di daerah perakaran berjalan dengan baik ke bagian atas tanaman.

Awal Berbunga

Tanaman jeruk asal ES dan BPMT mulai berbunga pada bulan September 2013 (18 BST) dengan jumlah bunga, buah, dan persentase *fruitset* yang tidak berbeda nyata antarkedua perlakuan, demikian juga pada pembungaan pada tahun berikutnya (2014) (Tabel 1). Persentase tanaman yang berbunga juga tidak berbeda nyata antarperlakuan baik, pada awal berbunga maupun pada tahun kedua (Gambar 5), dengan persentase peningkatan masing-masing sebesar 367% dan 451% pada perlakuan ES dan BPMT.

Kemampuan berbunga tanaman jeruk merupakan proses fenologi yang kompleks, dipengaruhi oleh berbagai faktor yang saling berinteraksi, misalnya

umur pucuk tanaman, posisi mata tunas pada ranting, suhu, stres air, serta status produksi buah pada musim sebelumnya (Valiente & Albrigo 2004, Srivastava *et al.* 2010). Pada jeruk Kalamondin yang berasal dari *plantlet* dan disambung pada JC, pembungaan terjadi setelah 9 bulan *transplanting* dan setelah tanaman tersebut mengalami stres air (musim kemarau) selama 4 bulan (Devy *et al.* 2013).

Secara umum, *plantlet* yang berasal dari perbanyakan ES *in vitro* mempunyai sifat juvenil yang panjang (Ligeng *et al.* 1995). Namun, dengan menyambung *plantlet* pada batang bawah JC, menjadikan tanaman tersebut mempunyai fase generatif/berbunga yang sama dengan mata tempel benih jeruk yang berasal dari BPMT. Hal ini menunjukkan bahwa proses pertumbuhan dan perkembangan tanaman hasil penyambungan berjalan normal, karena penyambungan antarbatang bawah dan atas kompatibel (Wang *et al.* 2011), sistem jaringan pembuluh pada bagian yang menyambung juga berkembang optimal sehingga translokasi nutrisi, hasil fotosintesis, dan mikro RNA yang terbentuk pada bagian akar maupun pucuk tanaman dapat terdistribusi

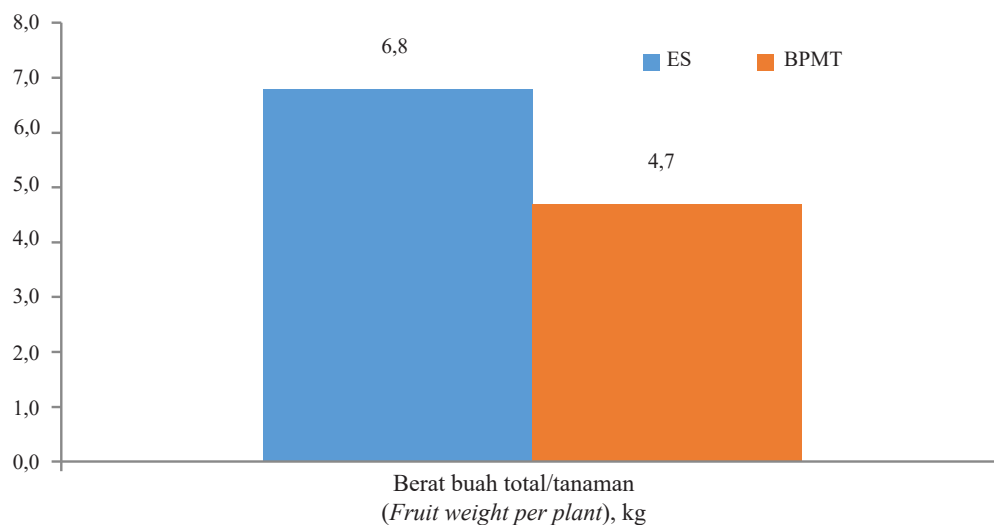
Tabel 2. Rerata jumlah buah/tanaman pada tahun ke-2 dan ke-4 pembuahan (2014 dan 2016) [The average of fruit number per plant on the second and fourth year of fruit production (2014 and 2016)]

Perlakuan (Treatments)	2014	2016	Kenaikan (Increase), %
ES	29,1 ^{tn (ns)}	81,6*	215,7
BPMT	19,4	51,4	176,1
KK (CV), %	36	4	

Keterangan : tn = tidak nyata, ns = non significant, * berbeda nyata taraf 5% pada uji Duncan



Gambar 6. Tanaman siam Kintamani asal sambung ES (a) dan tempel BPMT (b) [Tangerine Kintamani derived from SE grafting (a) and BMB budding (b)]



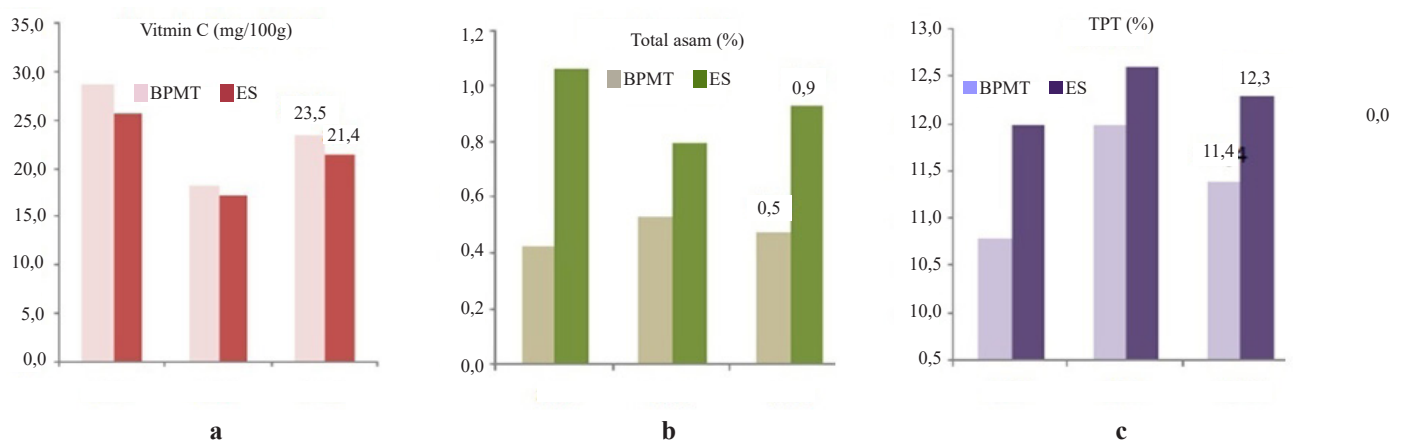
Gambar 7. Rerata berat buah per tanaman (ES dan BPMT umur 42 BST, 2016) [The average of fruit weight per plant (SE and BMB on 42 MAT, 2016)]

dengan baik. Pada jeruk keprok dan *grapefruit* dengan batang bawah *Troyer* dan *Volkamer*, ekspresi dari *miR156* dan *miR157* pada tanaman tersebut lebih rendah dibandingkan tanaman yang tidak disambung (Tzarfati *et al.* 2013). Berkurangnya ekspresi dari kedua mikro RNA tersebut dapat mendorong pengurangan fase juvenil pada tanaman berkayu (Wang *et al.* 2011). Fenomena ini yang menyebabkan tanaman dengan *plantlet* sebagai bahan batang atas mempunyai kemampuan untuk berbunga dan berbuah yang sama dengan tanaman dengan mata tempel asal BPMT. Ditambahkan oleh Wang *et al.* (2011), fase transisi

dari meristem vegetatif ke generatif pada tanaman juga bergantung pada interaksi antara signal internal dan lingkungan. Pada fase tersebut, florigen yang diproduksi pada daun ditranslokasikan ke bagian atas tanaman dan mendorong terjadinya morfogenesis, sedangkan terbentuknya *florigen* didahului oleh terkirimnya sinyal *florigenic* yang ada pada batang bawah. Selain pengurangan ekspresi dari mikro RNA tersebut, fase *juvenile* jeruk diduga juga diperpendek dengan terbentuknya protein yang berfungsi sebagai pengkode gen *flowering locus T (CtFT)* yang berperan penting dalam induksi pembungaan (Nishikawa 2013).



Gambar 8. Penampilan buah siam Kintamani asal BPMT (a) dan ES (b) [*The performance of tangerine Kintamani fruit derived from BMB (a) and SE (b)*]



Gambar 9. Kandungan vitamin C (a), total asam (b), dan TPT (c) pada buah yang dipanen 2015 dan 2016 [*Vitamin C content (a) total acid (b) TSS (c) of fruit harvested in 2015 and 2016*]

Jumlah dan Berat Buah Per Tanaman

Jumlah buah pada tahun ke-2 (September 2014) dan akhir pengamatan (September 2016) menunjukkan terjadi kenaikan sebesar 215,7% dan 176,1% pada masing-masing perlakuan ES dan BPMT (Tabel 2, Gambar 6).

Pada tahun ke-4 pembuahan (2016), tanaman jeruk asal ES mempunyai jumlah buah/tanaman dan berat buah total/tanaman lebih tinggi secara nyata dibandingkan tanaman hasil okulasi BPMT (Gambar 7). Perbedaan produksi pada kedua perlakuan tersebut diduga disebabkan adanya perbedaan kemampuan

Tabel 3. Sifat fisik buah jeruk siam Kintamani asal ES dan BPMT (September 2016) [Physical character of tangerine Kintamani fruit derived from SE and BMB (September 2016)]

Sifat fisik buah (Physical character of fruit)	ES (SE)	BPMT (BMB)	KK (CV), %
Tinggi buah (Fruit height), mm	44,1 ^{tn (ns)}	43,8	17,0
Diameter buah (Fruit diameter), mm	51,4 ^{tn (ns)}	50,7	15,2
Berat buah (Fruit weight), g	86,8 ^{tn (ns)}	100,9	15,1
Berat daging (Flesh weight), g	66,9 ^{tn (ns)}	74,2	15,9
Berat kulit (Skin weight), g	19,7 ^{tn (ns)}	26,0	13,8
Tebal kulit (Skin thick), mm	2,2 ^{tn (ns)}	2,5	10,4
Jumlah biji (Seed number), buah	16,5 ^{tn (ns)}	19,1	16,9
Jumlah juring (Section number)	10,1 ^{tn (ns)}	10,3	2,4
Panjang biji (Seed length), mm	11,0 ^{tn (ns)}	11,3	3,7
Berat ampas (Dreas weight), g	20,1 ^{tn (ns)}	21,1	17,3
Volume jus (ml/100 g)	37,0 ^{tn (ns)}	42,3	20,9

tn = tidak nyata pada uji Duncan pada taraf 5%, ns = not significant
ES = jeruk dengan batang atas plantlet hasil regenerasi melalui ES; BPMT = jeruk dengan batang atas mata tempel asal BPMT

pertumbuhan pada fase vegetatif. Pada tanaman asal ES relatif lebih baik dibandingkan BPMT (Gambar 3 dan 4), hal ini menyebabkan terjadinya perkembangan tanaman pada masing-masing perlakuan berbeda sehingga jumlah bunga yang dihasilkan pada tahun ke-2 juga relatif lebih tinggi pada perlakuan ES (Tabel 1.). Dengan jumlah bunga dan *fruitset* yang lebih baik maka produksi buah pada tanaman asal ES lebih tinggi dibandingkan BPMT.

Jumlah buah pada tanaman bergantung pada tinggi rendahnya *fruitset* (jumlah bunga yang menjadi buah) dan jumlah pentil yang gugur. Hasil penelitian Iglesias *et al.* (2003) menyebutkan bahwa pada fase buah sedang berkembang, kekurangan suplai karbohidrat yang terjadi pada umur 65 hari setelah bunga mekar dapat menyebabkan tingginya buah yang gugur. Kurangnya suplai karbohidrat salah satunya dapat disebabkan oleh adanya defoliiasi daun yang juga menyebabkan terjadinya proses fisiologis lainnya. Menurut Malik *et al.* (2015), defoliiasi daun akan menginduksi pertumbuhan mata tunas ke arah vegetatif atau generatif, bila tumbuh ke arah vegetatif maka

akan ditandai dengan terjadinya peningkatan kadar asam klorogenik dan naringenin, sedangkan pada fase generatif, peningkatan pada hesperidin, naringenin, dan Apigenin-7-glukosida.

Sifat Fisik Buah

Secara umum sifat fisik buah tanaman jeruk yang berasal dari mata tempel asal ES dan BPMT tidak berbeda, namun demikian, ukuran buah yang berasal dari perlakuan ES cenderung lebih kecil dibandingkan BPMT, demikian pula dengan berat daging, jumlah juring, dan volume jusnya (Tabel 3, Gambar 8).

Kecilnya ukuran buah pada tanaman ES diduga disebabkan tanaman ini mempunyai jumlah buah yang lebih banyak dibandingkan BPMT (Tabel 2). Secara umum, buah pada tanaman dengan kelembatan yang tinggi akan mempunyai ukuran buah yang lebih rendah dibandingkan tanaman yang berbuah jarang (Ouma 2012). Pada penelitian penjarangan buah apel, disimpulkan bahwa tanaman yang mempunyai jumlah buah yang lebih rendah karena dijarangkan akan mempunyai buah dengan ukuran berat dan TPT yang lebih tinggi dibandingkan kontrol (Meland 2009). Menurut Ingels (2000), pada tanaman dengan jumlah buah yang lebat akan terjadi kompetisi penggunaan karbohidrat yang terbentuk di antara buah tersebut, sehingga menyebabkan buah berkembang dengan ukuran yang kurang optimal. Hal ini didukung oleh penelitian Nartvaranant (2016) pada jeruk besar, di mana perlakuan penjarangan pada buah besar dapat menginduksi terbentuknya karbohidrat serta serapan N, P, dan K pada daun lebih tinggi dibandingkan pada tanaman kontrol.

Sifat Kimia Buah

Dari hasil analisis didapat bahwa kandungan vit C, total asam, dan total padatan terlarut (TPT) antara BPMT dan ES tidak berbeda nyata (Tabel 4, Gambar 9).

Total padatan terlarut (TPT) merupakan total jumlah konstituen yang larut dalam jus, di mana 85% umumnya adalah gula, di mana kadarnya akan naik dengan bertambah tuanya buah, tetapi akan menurun

Tabel 4. Sifat kimia buah jeruk, September 2016 (Chemical character of citrus fruit, September 2016)

Perlakuan (Treatments)	Vitamin C	Total asam (Acid total)	TPT (TSS)
ES (SE)	17,1 ^{tn (ns)}	0,80 ^{tn (ns)}	12,6 ^{tn (ns)}
BPMT (BMB)	18,3	0,53	11,8
KK (CV), %	4,8	32,4	2,3

tn = tidak nyata pada uji Duncan pada taraf 5%

bila terlalu tua (Hardi & Sanderson, 2010). Menurut Castle (1995), faktor utama yang berpengaruh terhadap kualitas buah adalah sifat genetik dari mata tempel atau batang atas tanaman, sedangkan faktor pendukung utamanya adalah iklim, pengaturan kanopi tanaman, nutrisi, aplikasi budidaya lainnya, dan jenis batang bawahnya (Melgar 2014). Lebih jauh Bermejo & Cano (2012) mengatakan bahwa spesifik kombinasi batang bawah dengan batang atas akan berpengaruh pada kadar TPT, keasaman, warna, aroma, serta kandungan vitamin, dan aktivitas anti oksidan di dalam buah (Cardenosa *et al.* 2015).

Ketuaan atau saat petik buah juga memberi pengaruh yang besar pada kualitas buah (Riaz *et al.* 2015, Cardenosa *et al.* 2015, Iqbal *et al.* 2012). Kandungan gula, ratio TPT, keasaman, kandungan jus dan pH cenderung naik seiring dengan bertambahnya tingkat ketuaan buah. Di sisi lain, kandungan asam dan asam askorvik (vit C) terdeteksi tinggi pada fase awal buah berkembang (fase belum masak).

KESIMPULAN DAN SARAN

Dengan menggunakan batang bawah JC, tanaman jeruk hasil sambung dengan batang atas *plantlet* hasil regenerasi melalui ES *in vitro*, dapat tumbuh, berkembang, dan berproduksi sama dengan tanaman hasil penempelan mata tempel asal BPMT.

Tinggi tanaman, diameter batang atas, dan diameter batang bawah pada tanaman jeruk dengan batang atas asal *plantlet* hasil ES tidak berbeda nyata dengan tanaman dengan mata tempel asal BPMT.

Jumlah dan berat buah pada tanaman jeruk dengan mata tempel *plantlet* hasil ES relatif lebih tinggi dibandingkan tanaman dengan mata tempel asal BPMT, dengan ukuran dan kualitas buah yang relatif sama.

DAFTAR PUSTAKA

- Ahmed, W, Pervez, MA, Amjad, M, Khalid, M, Ayyub, CM & Azher Nawaz, M 2006, Effect of stionic combination on the growth and yield of Kinnow Mandarin (*Citrus reticulata* Blanco)', *Pak. J. Bot.*, vol. 38, no. 3, pp. 603-12.
- Aloni, R 2007, 'Phytohormonal mechanisms that control wood quality formation in young and mature trees, In: The Compromised Wood Workshop 2007, Entwistle, K, Harris, P, Walker, J (eds.), *The Wood Technology Research Centre, University of Canterbury, Christchurch, New Zealand*, pp 1-22.
- Bennett, T, Hines, G, van Rongen, M, Waldie, T, Sawchuk, MG & Scarpella, E 2016, 'Connective auxin transport in the shoot facilitates communication between shoot apices', *PLoS Biol.*, vol. 14, no. 4, pp. 1-33, Doi:10.1371/journal.pbio.1002446.
- Bermejo, A & Cano, A 2012, 'Analysis of nutritional constituents in twenty citrus cultivars from the Mediterranean area at different stages of ripening', *Food and Nutrition Sciences*, no. 3, pp. 639-50.
- Bhogale, S, Mahajan, AS, Natarajan, B, Rajabhoj, M, Thulasiram, HV & Banerjee, AK 2014, 'MicroRNA156: a potential graft-transmissible microRNA that modulates plant architecture and tuberization in *Solanum tuberosum* ssp. andigena', *Plant Physiol.*, vol. 164, pp. 1011-27, doi: 10.1104/pp.113.230714.
- Brito, MEB, Arruda de Brito, KS, Fernandes, PD, Gheyi, HR, Suassuna, JF, Filho, WSS, Soare de Melo, A & Xavier, DA 2014, 'Growth ungrafted and grafted citrus rootstocks under saline water irrigation', *Academic Journals*, vol. 9, no. 50, pp. 3600-3609, DOI : 10.5897/2014.9039.
- Cardenosa, V, Barros, L, Barreira, JCM, Arenas, F, Moreno-Rojas, JM, Ferreira, ICFR 2015, 'Different citrus rootstocks present high dissimilarities in their antioxidant activity and vitamins content according to the ripening stage', *Journals of Plant Physiology*, vol. 174, pp. 124-30.
- Castle, WS 1995, 'Rootstock as a fruit quality factor in citrus and deciduous tree crops', *New Zealand J. of Crop and Horticultural Science*, vol. 23, no. 4, pp. 383-94, <doi: 10.1080/01140671.1995.9513914>http://dx.doi.org/10.1080/01140671.1995.9513914>.
- Chelong, I & Sdoodee Kasetsart, S 2013, 'Effect of climate variability and degree-day on development, yield and quality of shogun (*Citrus reticulata* Blanco) in Southern Thailand', *J. (Nat. Sci.)*, vol. 47, pp. 333-41.
- Daviere, JM & Achard, P 2013, 'Gibberellin signaling in plants', *Development*, vol. 140, pp. 1147-51. doi:10.1242/dev.087650 © 2013.
- Devy, NF, Farida & Hardiyanto 2013, 'Pembungaan jeruk kalamondin (*Citrus mitis* blanco) hasil perbanyakan melalui somatik embriogenesis (SE) yang disambung pada batang bawah', *JC, J. Hort.*, vol. 23, no. 1, hlm. 21-7.
- Devy, NF, Yenni & Hardiyanto 2014, 'The growth performance of citrus derived from somatic embryogenesis plantlets and scion stock', *Indones. J. Agric. Sci.*, vol. 15, no. 2, pp. 71-8.
- El-Sawy, A, Gomaa, A, Abd-El-Zaher, MH, Reda, A & Danial, N 2013, 'Production of somatic embryogenesis via in vitro culture of stigma and style for elimination of citrus psorosisvirus (CpsV) from some citrus genotypes', *Journal of Horticultural Science & Ornamental Plants*, vol. 5, no. 2, pp. 110-7.
- Frigerio, M, Alabadi, S, Perez-Gomez, J, Garcí'a-Ca'rcel, L, Phillips, AL, Hedden, P & Bla'zquez, MA 2006, 'Transcriptional regulation of gibberellin metabolism genes by auxin signaling in arabidopsis', *Plant Physiology*, vol. 142, pp. 553-63.
- Garcia-Sanchez, F, Simon, I, Lidon, V, Manera, FJ, Simon-Grao, S, Perez-Perez, JG & Gimeno, V 2015, 'Shade screen increases the vegetatif growth but not the production in 'Fino 49' lemon tress grafted on *Citrus macrophylla* and *Citrus aurantium* L', *Scientia Horticulturae*, vol. 194, pp. 175-80.
- Ghosh, SN, Bera, IB & Roy, IS 2012, 'Effect of rootstocks on performance of mosambi – sweet orange under irrigated condition in laterite soil of West Bengal, India', *Journal of Crop and Weed*, vol. 8, no. 2, pp. 50-2.
- Goldschmidt, EE 2014, 'Plant grafting: New mechanisms, evolutionary implications, Review Article', *Frontiers in Plant Science*, vol. 5, pp. 9, doi : 10.3389/fpls.2014.00727.

18. Goncalves, FP, Stuchi, ES, Lourenco, SA, Kriss, AB, Gottwald, TR & Amorrim, L 2014, 'The effect of irrigation on the development of citrus variegated chlorosis symptoms', *Crop Protection*, vol. 57, pp. 8-14.
19. Goussard, PG, Wiid, J & Kasdore, GGF 1991, The effectiveness of in vitro somatic embryogenesis in eliminating fanleaf virus and leafroll-associated viruses from grapevines, *S. Afr. J. Enol. Vitic.*, vol. 12, pp. 77-81.
20. Harada, T 2010, 'Review: Grafting and RNA transport via phloem tissue in horticultural plants', *Scientia Horticulturae*, vol. 125, pp. 545-50.
21. Hardi, S & Sanderson, G 2010, *Citrus maturity testing*, Primefactsn 980, Industry and Investment NSW.
22. Iglesias, DJ, Tadeo, FR, Primo-Millo, E & Talon, M 2003, 'Fruit set dependence on carbohydrate availability in citrus trees', *Tree Physiology*, vol. 23, pp. 199-204.
23. Ingels, C 2000, *Fruit thinning to increase fruit size*, Publication Number 31-S84 Cooperative Extension, University Of California.
24. Iqbal, M, Khan, MN, Zafar, M & Munir, M 2012, Effect of harvesting date on fruit size, fruit weight, and total soluble solids of feutrell's early and kinnow cultivars of Mardan (*Citrus reticulata*) on the economic conditions of farming community of Faisalabad', *Sarhad J. Agric.*, vol. 28, no. 1, pp. 19-21.
25. Ko, D, Kanga, J, Kibab, T, Parka, J, Kojimab, M, Doc, J, Kima, KY, Kwonc, M, Endlerd, A, Songa, WY, Martinoia, E, Sakakibara, H & Leea, Y 2014, 'Arabidopsis ABCG14 is essential for the root-to-shoot translocation of cytokinin', *PNAS*, vol. 111, no. 19, pp. 7150-55, <www.pnas.org/cgi/doi/10.1073/pnas.1321519111>.
26. Koepke, T & Dhingra, A 2013, 'Rootstock scion somatogenetic interactions in perennial composite plants', *Plant Cell Rep*, vol. 32, no. 9, pp. 1321-37, <doi:10.1007/s00299-013-1471-9>.
27. Kumari, A, Kumar, J, Kumar, A, Chaudhury, A & Singh, SP 2015, 'Grafting triggers differential responses scions and rootstock', *PLoS ONE*, vol. 10, no. 4, <e0124438.oi:10.1371/journal.pone.024438>.
28. Ligeng, C, Keling, C & Guangyan, Z 1995, 'Genetic study and artificial regulation of juvenile period of citrus seedling', *Acta Horticulturae*, vol. 403, pp. 205-10.
29. Liu, XY, Li, J, Liu, MM, Yao, Q & Chen, JZ 2017, 'Transcriptome profiling to understand the effect of citrus rootstocks on the growth of 'Shatangju', Mandarin, *PLoS ONE*, vol. 12, no. 1, pp. 22, <e0169897. doi:10.1371/journal.pone.0169897>.
30. Malik, NSA, Perez, JL & Kunta, W 2015, 'Inducing flusing in citrus cultivars and changes in polyphenols associated with bud break and flowering', *Journal Horticulture*, vol. 2, no. 3, <http://dx.doi.org/10.4172/2376-0354/10vol48>.
31. Meland, M 2009, 'Effects of different crop loads and thinning times on yield, fruit quality, and return bloom in *Malus domestica* Borkh, Elstar', *Journal of Horticultural Science & Biotechnology, ISAFRUIT Special Issue*, pp. 117-121.
32. Melgar, JC 2014, 'Issues in citrus fruit production', *Stewart Postharvest Review*, vol. 2, no. 1, pp. 1-4, <www.stewartpostharvest.com>.
33. Meziane, M, Boudjeniba, M, Frasheri, D, D'Onghia, AM, Carra, A, Carimi, F, Haddad, N, Boukhalfa, S & Braneci, S 2012, 'Regeneration of Algerian citrus germplasm by stigma/style somatic embryogenesis', *African Journal of Biotechnology*, vol. 11, no. 25, pp. 6666-72.
34. Nartvaranant, P 2016, 'Effects of fruit thinning on fruit drop, leaf carbohydrates concentration, fruit carbohydrates concentration, leaf nutrient concentration and fruit quality in Pummelo cultivar Thong Dee, Songklanakarin', *J. Sci. Technol.*, vol. 38, no. 3, pp. 249-55.
35. Nishikawa, F 2013, 'Regulation of floral induction in citrus', *Review. J. Japan, Soc. Hort. Sci.*, vol. 82, no. 4, pp. 283-92.
36. Ouma, G 2012, 'Fruit thinning with specific reference to citrus species : A review', *Agric. Biol. J. N. Am*, vol. 3, no. 4, pp. 175-191, <doi:10.5251/abjna.2012.3.4.175.191, http://www.scribbr.org/ABJNA>.
37. Pedroso, FKJV, Prudente, DA, Bueno, ACR, Machado, EC & Ribeiro, RV 2014, 'Drought tolerance in citrus trees in enhanced by rootstock-independent changes in root growth and carbohydrate availability', *Environmental and Experimental Botany*, vol. 101, pp. 26-35.
38. Prassinis, C, Ko, JH, Lang, G, Iezzoni, AF, Han, KH, 2009, 'Rootstock-induced dwarfing in cherries is caused by differential cessation of terminal meristem growth and is triggered by rootstock-specific gene regulation', *Tree Physiol*, <2009; 29: 927-936. doi: 10.1093/treephys/tpp027 PMID: 19429629>.
39. Riaz, M, Zamir, T, Rashid, N, Jamil, N, Rizwan, S, Masood, Z, Mushtaq, A, Tareen, H, Khan, M & Ali, M 2015, 'Comparative study of nutritional quality of orange (*Citrus sinensis*) at different maturity stages in relation to significance for human health', *American-Eurasian Journal of Toxicology Sciences*, vol. 7, no. 4, pp. 209-13, <DOI: 10.5829/idosi.aejts.2015.7.4.95200>.
40. Saeed, M, Dodd, PB & Sohail, L 2011, 'Anatomical studies of stems, roots and leaves of selected citrus rootstock varieties in relation to their vigour', *Journal of Horticulture and Forestry*, vol. 2, no. 4, pp. 87-94, <http://www.academicjournals.org/jhf>.
41. Santos, CHB, Eder Jorge De Oliveira, Francisco Ferraz Laranjeira, Onildo Nunes De Jesus, Eduardo Augusto Girardi 2015, 'Growth, fruit set, and fusariosis reaction of yellow passion fruit grafted on to *Passiflora* spp.', *Rev. Bras. Frutic, Jaboticabal-SP*, vol. 38, no. 3, pp. e-711
42. Simpson, CR, Nelson, SD, Melgar, JC, Jifon, J, King, SR, Schuster, G & Volder, A 2014, 'Growth response of grafted and ungrafted citrus trees to saline irrigation', *Scientia Horticulturae*, vol. 169, pp. 199-205.
43. Solis-Ramos, LY, Andrade-Torres, A, Sáenz-Carbonell, LA, Oropeza-Salín, CM, Castaño de la Serna, E 2012, 'Somatic embryogenesis in recalcitrant plants in embryogenesis', pp. 597-618, Rijeka; Shanghai: ISBN: 978-953-51-0466-7 InTech.
44. Srivastava, AK, Singh, S & Huchche, AD 2010, 'An analysis on citrus flowering - A review', *Agric. Rev.*, vol. 21, no. 1, pp. 1-15.
45. Toplu, C, Kaplankiran, M, Demirkaser, TH & Yildiz, E 2008, 'The effects of citrus rootstocks on Valencia Late and Rhode Red Valencia oranges for some plant nutrient elements', *Academic Journal, African Journal of Biotechnology*, vol. 7, no. 24, pp. 4441-4445, <http://www.academicjournals.org/AJB ISSN 1684-5315>.
46. Tzarfati, R, Ben-Dor, S, Sela, I & Goldschmidt, E 2013, 'Graft-induced changes in microRNA expression patterns in Citrus leaf petioles', *Open Plant Sci. J*, vol. 7, pp. 17-23, <doi: 10.2174/1874294701307010017>.
47. Valiente, JI & Albrigo, LG 2004, 'Flower bud induction of sweet orange trees (*Citrus sinensis* (L.) Osbeck): Effect of low temperature, crop load, and bud age', *J. Amer. Soc. Hort. Sci.*, vol. 129, no. 2, pp. 158-164.

48. Wang, JW, Park, MY, Wang, LJ, Koo, Y, Chen, XY & Weigel, D 2011, 'miRNA control of vegetative phase change in trees', *PLoS Genet.* 7:e1002012, <doi: 10.1371/journal.pgen.1002012>.
49. Wang, P, Wang, Y & Wu, QS 2016, 'Effect of soil tillage and planting grass on arbuscular mycorrhizal fungal propagules and soil properties in citrus orchard Southeast China', *Soil and Tillage Research*, vol. 155, pp. 54-61.
50. Widyarningsih, S, Yualianti, F & Devy, NF 2013, Keefektifan eliminasi penyakit sistemik (huanglongbing dan *Citrus tristeza virus*) pada jeruk dengan embriogenesis somatik, *J. Hort.*, vol. 23, no. 2, pp. 107-113.
51. Yuan, Zhao Liqiang, Kong Qiusheng, Cheng Fei, Niu Mengliang, Xie Junjun, Muhammad Azher Nawaz & Bie Zhilong 2016, 'Comprehensive mineral nutrition analysis of watermelon grafted onto two different rootstocks', *Horticultural Plant Journal*, vol. 2, no. 2, pp. 105-113, <<http://dx.doi.org/10.1016/j.hpj.2016.06.003>>.
52. Xie, S, Liu, Q, Xiong, X & Lovatt, CJ 2012, 'Effect of water stress on citrus photosynthetic characteristics', Proc. XXVIIIth IHC – IS on Citrus, Bananas and Other Trop, *Fruits under Subtrop. Conditions*, Eds.: Wünsche, JN & Albrigo, LG, *Acta Hort.*, vol. 928, pp. 315-22.